动 物 学 研 究 2002, Jun. 23 (3): 258～260
Zoological Research
CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853

简报

念珠伪角毛虫小核体功能初步研究

刘小意，金立培[1]
（中山大学 生物学系，广东 广州 510275，lpjin@21cn.com）

摘要：为了研究念珠伪角毛虫的小核是否具有及具有怎样的体功能，采用显微切割手术去小核并建立无小核细胞系。经蛋白银染色鉴定、无小核细胞系群体中大多数细胞的形态结构存在缺陷：口围带的部分小膜缺损或排列紊乱，大核的数目和形态也不正常。这表明、念珠伪角毛虫的小核对于保持口围带结构的完整性以及大核的数目和形态结构的稳定性起着明确的作用。

关键词：纤毛虫；念珠伪角毛虫；小核；形态学
中图分类号：Q959.116；Q24 **文献标识码**：A **文章编号**：0254－5853(2002)03－0258－03

A Preliminary Study on Somatic Function of Micronucleus in *Pseudokeronopsis monilata*

LIU Xiao-yi, JIN Li-pei
(*Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China, lpjin@21cn.com*)

Abstract: To study the somatic function of the micronucleus of the ciliated protozoan *Pseudokeronopsis monilata*, amicronucleate cells were generated by removing the micronuclei shortly before binary fusion. Most of the amicronucleate cells derived from regeneration were crippled in morphology, characterized by the defective adoral zone of membranelles. At the same time, the number and the size of macronuclei in some amicronucleates become unstable. These suggest that the micronuclei play an important role for maintaining the stable structure of the cell and the macronuclei.

Key words: Ciliate; *Pseudokeronopsis monilata*; Micronucleus; Morphology

收稿日期：2001－09－30；接受日期：2001－12－25
基金项目：国家自然科学基金资助项目（39970089）
1. 通讯作者

（上接第257页）

参考文献：

Christensen T A, Hildebrand J G. 1987. Functions, organization, and physiology of the olfactory pathways in lepidopteran brain [A]. In: Gupta A P. Arthropod Brain: Its Evolution, Development, Structure and Functions [M]. New York: Wiley. 457－484.

Christensen T A, Waldrop B R, Hildebrand J G. 1998. Multitasking in the olfactory system: Context-dependent responses to odors reveal dual GABA-regulated coding mechanisms in single olfactory projection neurons [J]. *J. Neuroscience*, **18** (15): 5999－6008.

Hansson B S, Anton S. 2000. Function and morphology of the antennal lobe: New developments [J]. *Annu. Rev. Entomol.*, **45**: 203－231.

Lei H, Hansson B S. 1999. Central processing of pulsed pheromone signals by antennal lobe neurons in the male moth *Agrotis segetum* [J]. *J. Neurophysiol*, **81**: 1113－1122.

Waldrop B, Christensen T A, Hildebrand J G. 1987. GABA-mediated synaptic inhibition of projection neurons in the antennal lobes of the sphinx moth, *Manduca sexta* [J]. *J. Comp. Physiol.*, **161**: 23－32.

Xiang H, Luo J W, Anton S, *et al*. 2001. Electrophysiological characteristics of neurons responding to sex pheromone in the antennal lobe of the male moth *Agrotis segetum* [J]. *Zool. Res.*, **22** (3): 181－186. [项 辉，罗剑文，Anton S，等. 2001. *Agrotis segetum* 雄蛾触角叶性信息素反应神经元对电刺激触角神经的反应. 动物学研究，**22** (3): 181－186.]

纤毛虫是具有大、小两型细胞核的单细胞真核生物。有研究表明，小核除了通过有性生殖演化为新的大核和小核，即主要行使生殖功能外，还直接对代谢、生长、发育及形态建造等过程发挥作用或产生影响，也就是说小核兼具某些体功能（Ng，1986; Jin & Ng，1989; 李洪超和史新柏，1993; 金立培和刘小意，2000; 金立培等，2001），为了评估纤毛虫小核体功能的普遍性，我们对腹毛类纤毛虫中的念珠伪角毛虫进行了初步研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料为念珠伪角毛虫（*Pseudokeronopsis monilata*），其来源和培养方法与以前的报道相同（刘小意和金立培，2000）。

1.2 无小核细胞系的建立

念珠伪角毛虫在无性分裂过程中，从融合大核形成到分裂1～2次期间，进入有丝分裂的3～4枚小核有规律地排列于大核左侧（刘小意和金立培，2000）。在此期间，用解剖微针在大、小核之间作直线纵切（金立培，1993），可获得一大一小2个细胞块。将含有大核的大细胞块挑出进行单块培养，以获得多个术后再生的细胞系。然后经醋酸乳酸地衣红临时染色，从中筛选、建立实验所需的无小核细胞系，并以正常细胞系和术后再生的有小核细胞系作对照观察。

1.3 细胞学观察

以醋酸乳酸地衣红作临时染色鉴定小核的有无；以蛋白银染色制片作细胞形态结构的比较观察。

2 结果

2.1 无小核细胞系的获得

对90只念珠伪角毛虫进行了切割手术，共获得72个再生细胞，其中48个细胞能连续分裂，形成较大群体的细胞系。经临时染色鉴定，从中筛选出无小核细胞系13个，占27%（13/48），有小核细胞系35个，占73%（35/48）。另外24个再生细胞中，有9个进行过分裂，但在2～8 d内相继死亡，而虫体数最多的仅为5个；从未分裂过的15个细胞中，再生后第1天死亡的有3个，第2天8个，第3天1个，第4天1个，还有2个细胞再生后维持生存但不分裂达8 d，在第9天死亡。这24个细胞及其分裂产生的细胞大多形体较小、运动缓慢、不活跃，因个体数目太少而未鉴定有无小核。



图1～7 念珠伪角毛虫小核体功能

Figs. 1－7 Somatic function of micronucleus in *Pseudokeronopsis monilata*

AZM：口围带（Adoral zone of membranelle）；MA：大核（Macronuclei）；MI：小核（Micronuclei）

1. 正常细胞的口围带、大核和小核；2. 无小核细胞，箭头示多达20片AZM小膜消失，仅见右侧残留的连续毛基粒；3. 无小核细胞，箭头示多达20片AZM小膜消失，仅见右侧残留的不连续毛基粒；4. 无小核细胞，箭头示残留的毛基粒排列凌乱、弯曲变形；5. 无小核细胞，箭头示仅1～2片AZM小膜缺损；6. 无小核细胞，箭头示少数几片AZM小膜缺损；7. 无小核细胞，箭头示形态和数目皆异常的大核。

1. the normal AZM, macronuclei and micronuclei of a micronucleate cell; 2. the amicronucleate cell, showing that about twenty membranelles of AZM disappear, with the kinetosomes of right side remaining continuously (arrow); 3. the amicronucleate cell, showing that about twenty membranelles of AZM disappear, with the kinetosomes of right side remaining discontinuously (arrow); 4. the amicronucleate cell, showing that some kinetosomes of AZM are arranged disorderly (arrow); 5. the amicronucleate cell, showing defective AZM with only one or two membranelle(s) disappearing (arrow); 6. the amicronucleate cell, showing defective AZM with a few membranelles disappearing (arrow); 7. the amicronucleate cell, showing abnormal number and morphology of the macronuclei (arrows).

2.2 无小核细胞的形态特征

观察了大约500只蛋白银染色的无小核虫体，结果表明，在无小核细胞系群体中近80%的虫体（约有400只）的口围带（AZM）显出形态结构异

常（图2～6），其AZM翻领部的小膜存在不同程度的缺损。有的虫体多达20片AZM小膜消失，仅见右侧残留的连续（图2）或不连续（图3）的毛基粒；有的虫体所缺损的小膜排列凌乱、弯曲变形（图4）；还有部分虫体仅少数几片小膜出现轻度缺损（图5～6）。与此同时，在被观察过的近千只有小核的细胞（包括手术和未手术的各约500只）中，均未发现AZM畸形的迹象（图1），与无小核细胞系形成鲜明对照。此外，无小核细胞还常出现大核数目偏高（多于8枚）及其形态结构不稳定等现象（图7）。

3 讨 论

念珠伪角毛虫去小核后，其无小核细胞系群体中大部分虫体的口围带出现畸形，某些细胞的大核数偏高且形态异常。相反，对正常细胞系和术后再生的有小核细胞系的大量细胞作对照观察，却未发现上述现象。显然，就表现特征看，小核不仅对保持AZM结构的稳定性和完整性发挥作用，而且对维持恒定的大核数量和正常的大核形态也发挥了作用。

草履虫去小核后其口器发生异常，口膜组装出现畸形（Ng，1990）。冠突伪尾柱虫失去小核后，AZM小膜显出多种不同程度的缺损，且受损部位的细胞质明显凹缩变形（Jin & Ng，1989）。多节核棘尾虫失去小核后，大核的形态结构和结节的数量均受到明显的影响，但未发现口围带异常的现象（李洪超和史新柏，1993）。念珠伪角毛虫无小核细胞与冠突伪尾柱虫的情形非常相似，且其大核的数目和形态结构亦受到影响，但由于后者大核小而数量众多，难以对其受影响的程度做出可靠的评估。由此看来，不同种类纤毛虫小核的体功能表现形式不尽相同。尽管如此，这些纤毛虫失去小核后仍有共同的特点可寻，即细胞的形态结构或大核的形态结构失去稳定性而显出畸形。因此，我们推测这种形态结构的不稳定性与细胞骨架或核骨架潜伏着某些结构的脆弱性有关，很可能小核某些相关遗传信息的丧失在形态发生时导致皮层超微结构或细胞骨架和核骨架如微管、微丝的分子组装出现某些缺陷，形成了一些支撑、联接结构的薄弱点，为随后出现形态结构异常埋下隐患。当然，这些只是推测，有关小核体功能确切的内在机制尚有待深入的实验研究去揭示。

参考文献：

Jin L P. 1993. Obtainment and identification of the amicronucleates of *Pseudourostyla cristata* [J]. *Acta Scien. Nature Univ. Sun Y. S.*, **32** (2): 106-110. [金立培. 1993. 冠突伪尾柱虫无小核体的人工获得与快速筛选. 中山大学学报（自然科学版），**32** (2): 106-110.]

Jin L P, Liu X Y. 2000. Necessity of the micronucleus for vigor and viability of the cells in *Paraurostyla weissei* [J]. *Acta Scien. Nature Univ. Sun Y. S.*, **39** (5): 123-125. [金立培，刘小意. 2000. 魏氏拟尾柱虫小核体功能的研究. 中山大学学报（自然科学版），**39** (5): 123-125.]

Jin L P, Ng S F. 1989. Somatic function of the germ nucleus in asexual reproduction of *Pseudourostyla cristata* [J]. *J. Protozool.*, **36**: 315-326.

Jin L P, Liu X Y, Jin H Z. 2001. Nuclear control of cortical development during conjugation in *Pseudourostyla cristata* [J]. *Zool. Res.*, **22** (2): 99-104. [金立培，刘小意，金华中. 2001. 冠突伪尾柱虫有性生殖期间皮膜发育的核控制. 动物学研究，**22** (2): 99-104.]

Li H C, Shi X B. 1993. A preliminary study on amicronucleate individuals of *Stylonychia nodulinucleata* [J]. *Zool. Res.*, **14** (1): 91-92. [李洪超，史新柏. 1993. 多节核棘尾虫无小核系虫体的初步研究. 动物学研究，**14** (1): 91-92.]

Liu X Y, Jin L P. 2000. Studies on the morphology and morphogenesis of *Pseudokeronopsis monilata* [J]. *Acta Scien. Nature Univ. Sun Y. S.*, **39** (suppl. 2): 82-86. [刘小意，金立培. 2000. 念珠伪角毛虫的形态学及形态发生的研究. 中山大学学报（自然科学版），**39**（增刊2）: 82-86.]

Ng S F. 1986. The somatic function of micronucleus of ciliated protozoa [J]. *Progress in Protistology*, **1**: 215-286.

Ng S F. 1990. Developmental heterochrony in ciliated protozoa: Overlap of asexual and sexual cycles during conjugation [J]. *Biol. Rev.*, **65**: 19-101.